Aus dem Hygienischen Institut der Universität Tübingen.
Vorstand Prof. Dr. Kurt Wolf.

Über die Wirkung des sichtbaren Spektrums auf Bakterien.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Medizin, Chirurgie und Geburtshilfe
einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Eberhard-Karls-Universität zu Tübingen

vorgelegt von

Maria Plotz
aus Thalheim/Erzgebirge.

Tübingen 1931
Druck von H. Laupp jr.

Zum Druck genehmigt von der Medizinischen Fakultät
der Universität Tübingen

Dekan: Prof. Dr. Haffner,

Referent: Prof. Dr. K. Wolf.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinem hochverehrten Lehrer,
Herrn Prof. Dr. Wolf in Tübingen
und meinen Eltern
in Verehrung und Dankbarkeit gewidmet.

Daß Bakterien durch Licht abgetötet werden, ist seit langem bekannt. So haben Downs und Blunt (1) festgestellt, daß in Flüssigkeiten, z. B. Urin, keine Zersetzung stattfindet, wenn sie der Wirkung des Lichtes ausgesetzt sind. Buchner (2) maß dem Sonnenlicht bei der Selbstreinigung der Flüsse eine große Bedeutung bei. Bakterien, die er unter einer 1 m hohen Wassersäule dem Sonnenlichte aussetzte, wurden getötet. Aber auch diffuses Tageslicht wirkt bei längerer Dauer nachteilig auf die im Wasser schwebenden Keime. Robert Koch (3) berichtete in einem Kongreßvortrag über die Abtötung von Tuberkelbazillen durch Sonnenlicht. Er stellte fest, daß die Zeit, wenige Minuten bis Stunden, innerhalb welcher die Abtötung erfolgte, von der Schichtdicke abhängig war. Bei den Versuchen J. van Bergens (4) wurden auf 1300 m Höhe virulente Tuberkelbazillen durch Sonnenlicht in den Sommermonaten in etwa einer halben Stunde, im Frühjahr und Herbst in etwa einer Stunde und im Winter in noch etwas längerer Zeit abgetötet. Selbst in den kältesten Wintertagen war nach einer zweistündigen Bestrahlung mit minimalster Sonnenintensität die Abtötung aller Tuberkelbazillen erfolgt. Auch mit künstlichen Lichtquellen wurden Versuche angestellt. So gelang es Finsen (5), mit konzentriertem elektrischem Licht, Bakterien innerhalb kurzer Zeit abzutöten.

Als wirksames Prinzip bei der Abtötung von Bakterien durch Licht vermuteten Downs und Blunt (1), daß vor allem die stark brechbaren Strahlen bakterizide Eigenschaften haben.

Dies erklärt, warum das Sonnenlicht in den verschiedenen Jahreszeiten verschieden stark bakterizid wirkt. Es enthält am 15. Juli zehnmal mehr ultraviolette Strahlen, als am 15. Januar. Dies ist zuerst bewiesen worden durch die Untersuchungen von Dorno (23), die er in Davos, also in etwa 1800 m Höhe ausgeführt hat. Der Sonne ausgesetzte Bakterien werden demnach deshalb, wie eben erwähnt wurde, im Sommer schneller abgetötet, als im Winter.

Die bakterizide Wirkung der ultravioletten Strahlen hat Strebel (6) bewiesen. Er bediente sich bei seinen Versuchen eines Funkeninduktors. Die mit diesem erzeugten kurzwelligen Strahlen sammelte er in Quarzlinsen und konzentrierte sie auf Bakterien.

Bie (7) benutzte zu seinen Versuchen die Durchlässigkeit von Bergkristall für ultraviolette Strahlen in Gestalt einer Linse aus Bergkristall. Er konnte dadurch feststellen, daß die Lichtstrahlen unter 300 μμ in erster Linie bakterientötend wirken und fand die Wirkung dieser Strahlen 10—12mal so groß wie die des ganzen übrigen Spektrums.

Thiele und Wolf (8) zeigten die bakterientötende Wirkung der ultravioletten Strahlen unter anderen Versuchen in augenfälliger Weise dadurch, daß sie zwischen die Quarzquecksilberlampe und das Quarzreagensrohr, in dem sich die Bakterienaufschwemmung befand, blaues Steinsalz einschalteten. Dieses läßt nur ultraviolettes Licht durch, so daß die Bakterien im Reagensrohr für das Auge im Dunkeln abgetötet wurden. Sie zeigten außerdem, indem sie in die Bakterienaufschwemmung Wasserstoff einleiteten, daß Bakterien durch ultraviolettes Licht unabhängig vom Sauerstoff abgetötet werden. Temperaturen spielen keine Rolle, wie Versuche, die bei Zimmer- wie Körpertemperatur aufgestellt wurden, gezeigt haben. Sie stellten weiterhin fest, daß Bakterien, die in vollständig durchsichtigem, klarem Wasser aufgeschwemmt sind, durch ultraviolette Strahlen momentan abgetötet werden, daß die Strahlen aber in Wasser, das auch nur im geringsten Grade getrübt ist, nicht eindringen und deshalb darin auch nicht bakterienschädigend wirken können.

Hertel (9) beobachtete unter dem Mikroskop den direkten Reiz der ultravioletten Strahlen auf das Protoplasma. Bei den Wellenlängen von 309—280 μμ wurden die Bakterien in wenigen Sekunden abgetötet. Er bestätigte somit die Versuche von Thiele und Wolf. Nach Gardenghi (10) liegt die stärkste bakterizide Wirkung am Ende des Violett und Anfang des Ultraviolett. Bang (11) konnte im Spektrum des Kohlenbogenlichtes 2 Maxima an Wirksamkeit feststellen.

Fulson und Coblentz (12) fanden, daß die stärkste keimtötende Kraft einer Quecksilberdampflampe von den Strahlen der Wellenlängen 170—280 μμ ausging. Mit einer selbstkon-

struierten Lampe gelang es Risler, Philibert und Courtier (13) Staphylococcus aureus in $^1/_{25}$ Sekunde zu töten. Die dabei wirksamen Strahlen, die bei der Verflüchtigung von Aluminiumfäden durch elektrischen Strom zustande kamen, lagen weit im Ultravioletten. Die intermittierende Bestrahlung von Bacterium Coli wirkt schweller als die kontinuierliche. Piras (14) stellte das mit Hilfe einer durchlöcherten Scheibe fest, die zwischen Bakterien und Lichtquelle rotierte.

Bei den Versuchen, die Wirkung von Strahlen andrer Wellenlängen auf die Bakterien zu erforschen, kam man zu den verschiedensten Ergebnissen.

Mit Hilfe von berußten Reagensgläsern stellte Geißler (15) eine bakterienschädigende Wirkung der Wärmestrahlen fest. Er verwendete zu seinen Versuchen Typhusbazillen und fand, daß alle Strahlen des elektrischen und des Sonnenspektrums das Wachstum der Bakterien hemmen, die roten ausgenommen. Beck und Schulze (16) sahen keine Wirkung der farbigen Strahlen mit von Landolt angegebenen Lichtfiltern. Ward (17) konnte eine bakterizide Wirkung der Strahlen von Grün bis Ultraviolett nachweisen. Im Ultrarot, Rot und Gelb fand jedoch keine Abtötung statt. Professor Dr. Wolf und Dr. Thiele (8) fanden, daß bei höheren Temperaturen auch durch längerwellige Strahlen Bakterien getötet werden, allerdings nicht so intensiv wie durch kurzwellige.

Zur Zerlegung des sichtbaren Sonnenspektrums benützte Wiesner (18) Filterflüssigkeiten, die nur einen bestimmten Teil des Spektrums durchließen. Bei allen Farbfiltern trat Abtötung ein, am stärksten bei Rot und Gelb. Die Wirkung des weisen unzerlegten Lichtes wurde aber damit nicht erreicht. Die Kraft der ultravioletten und der roten Strahlen stellte er einander gleich.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen anderer Forscher hielt Miramond de Laroquette (19) den leuchtenden Teil des Sonnenspektrums für den wirksamsten. Und zwar stand auch bei ihm wie bei Wiesner das weiße unzerlegte Licht an erster Stelle. Er machte seine Versuche mit verschiedenfarbigem Glas. Blaues Licht wirkte am stärksten, danach gelb, rot und zuletzt grün. Die Wärme spielte eine gewisse Rolle dabei. Eiskühlung verlangsamte die bakterizide Wirkung.

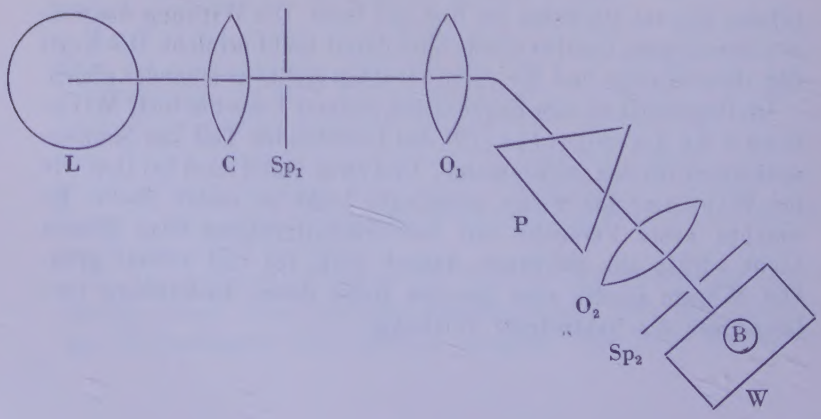
Stephan van der Lingen (20) bestrahlte Bakterien im Brutofen auf Agarnährboden nach Vorschaltung von verschieden farbenen Filtern. Blaugrünes und orangefarbiges Licht zeigten nur Wachstum hemmende Wirkung. Im roten, gelben, grünen und blauen Lichte erfolgte Abtötung.

Nach den Arbeiten von Schwarz und Schellenberg (21) zeigt auch das Phosphoreszenzlicht bakterizide Eigenschaften, die abhängig von den verschiedenen Wellenlängen, den Bakterien und der Zeit sind. Die größte Wirkung haben ultraviolett emittierende Phosphore und das gelbe Licht, die geringste das grüne.

Zusammenfassend ist demnach zu sagen, daß sich alle Autoren über die bakterientötende Kraft von ultraviolettem Licht einig sind. Es gehen aber die Meinungen bezüglich des sichtbaren Teils des Spektrums auseinander. Werden jedoch die Ergebnisse der Versuche hierüber genauer betrachtet, so ergibt sich, daß noch nicht untersucht worden ist, ob die bakterienschädigende Wirkung eben des sichtbaren Teils auf der Gesamtheit der Strahlen oder auf einzelne Ausschnitte des Spektrums zurückzuführen ist. Ich erhielt deshalb die Aufgabe übertragen, diese Frage zu beantworten.

Versuchsanordnung:

Die Versuche wurden in einem Dunkelzimmer ausgeführt. Die Lampe und der Strahlengang des Lichtes waren abgedunkelt, so daß nur der jeweils auf den Spalt eingestellte Lichtstrahl auf die Bakterienaufschwemmung wirken konnte.



Zu den Versuchen wurde eine Osramlampe L von 1000 Kerzen verwendet. Das in einem Kondensor C gesammelte Licht gelangte durch einen Spalt Sp_1 in eine Sammellinse O_1. In dem Prisma P wurde das Licht in seine einzelnen Spektralfarben zerlegt und durch eine zweite Sammellinse O_2 und den Spalt Sp_2 zu der Bakterienaufschwemmung B geschickt. Letztere befand sich in einem Quarzröhrchen in einem mit Wasser gefüllten Glasbehälter W. An der Stelle, wo die Lichtstrahlen hindurchtraten, war das Glas durch eine Quarzplatte ersetzt. Bei der Auftstellung des ganzen Apparates war uns Herr Dr. Port vom physikalischen Institut der Universität außerordentlich behilflich. Ich sage ihm für die Mühe, die er damit gehabt hat, und den Vorteil, den ich davon gehabt habe, besten Dank.

Die Versuche wurden mit Aufschwemmungen von Bakt. Coli, Bac. prodigiosus und Mäusetyphus bei verschiedener Temperatur und verschiedener Dauer der Belichtung mit den einzelnen Spektralfarben ausgeführt.

Von den betreffenden Bakterienkulturen kam eine gestrichene Öse von $^1/_4$ cm Durchmesser in 10 ccm physiologische Kochsalzlösung und davon 2 Tropfen nochmals in 10 ccm physiologische Kochsalzlösung. Die letzte Aufschwemmung wurde vor und nach der Bestrahlung auf ihre Bakterienzahl untersucht.

I. Versuche mit Bacterium coli.

1. Strahlen von 690 μμ Wellenlänge
   Temperatur $8^1/_2° - 9^1/_2°$
   Entnahme nach 5, 10, 15 Minuten
   In sämtlichen Proben waren am nächsten Tag Bakterien in Bouillon ausgewachsen.
2. Strahlen von 69 0μμ Wellenlänge
   Temperatur 30°—29°
   Bestrahlungszeit 20 Minuten
   Zahl der gewachsenen Bakterienkolonien
   vor dem Versuch 14306
   nach dem Versuch 19117
3. Strahlen von 623 μμ Wellenlänge
   Temperatur 33°—30°
   Zahl der gewachsenen Bakterienkolonien
   unbestrahlt 20632
   bestrahlt 28746

4. Strahlen von 590 μμ Wellenlänge
   Temperatur 31°—28½°
   Bestrahlungszeit 25 Minuten
   Zahl der Bakterienkolonien
   unbestrahlt 10042
   bestrahlt 13014

5. Strahlen von 589 μμ Wellenlänge
   Temperatur 33°—31,2°
   Bestrahlungszeit 25 Minuten
   Zahl der Bakterienkolonien
   unbestrahlt 4837
   bestrahlt 6017

6. Strahlen von 575 μμ Wellenlänge
   Temperatur 34°—31°
   Bestrahlungszeit 30 Minuten
   Zahl der Bakterienkolonien
   unbestrahlt 13167
   bestrahlt 14020

7. Strahlen von 535 μμ Wellenlänge
   Temperatur 35°—33°
   Bestrahlungszeit 45 Minuten
   Zahl der Bakterienkolonien
   unbestrahlt 7707
   bestrahlt 10672

8. Strahlen von 535 μμ Wellenlänge
   Temperatur 16°—18°
   Bestrahlungszeit 45 Minuten
   Nach der Bestrahlung waren mehr Bakterien als vorher gewachsen.

9. Strahlen von 468 μμ Wellenlänge
   Temperatur 36½°—34°
   Bestrahlungszeit 30 Minuten
   Bakterienkolonien
   unbestrahlt 6529
   bestrahlt 7790

10. Strahlen von 468 μμ Wellenlänge
    Temperatur 31°—28°
    Bestrahlungszeit 30 Minuten
    Zahl der Bakterienkolonien
    unbestrahlt 8006
    bestrahlt 5798

11. Strahlen von 438 μμ Wellenlänge
    Temperatur 34°—32°
    Bestrahlungszeit 30 Minuten
    Zahl der Bakterienkolonien
    unbestrahlt 4251
    bestrahlt 5

12. Strahlen von 415 μμ Wellenlänge
    Temperatur 35°—28°
    Bestrahlungszeit 40 Minuten

13. Strahlen von 415 μμ Wellenlänge

14. Strahlen von 396 μμ Wellenlänge

15. Strahlen von 396 μμ Wellenlänge
    Bei Versuch 10—15 konnte verzögertes Wachstum festgestellt werden.

16. Strahlen von 396 μμ Wellenlänge
Temperatur 32°—28°
Bestrahlungszeit 50 Minuten
Zahl der Bakterienkolonien
unbestrahlt 2864
bestrahlt nach 3 Tagen noch nichts gewachsen
nach 5 Tagen 12 gewachsen.

17. Strahlen von 396 μμ Wellenlänge
Temperatur 16°—17°
Bestrahlungzeit 45 Minuten
Zahl der Bakterienkolonien
unbestrahlt 9991 nach 2 Tg.
bestrahlt 1941 nach 3 Tg.

18. Strahlen von 415 μμ Wellenlänge
Temperatur 16°—17°
Bestrahlungszeit 45 Minuten
Zahl der Bakterienkolonien
unbestrahlt 14 408
bestrahlt 14 720

19. Strahlen von 396 μμ Wellenlänge
Temperatur 38°—30°
Bestrahlungszeit 2 Stunden
Leichte Wachstumsverminderung nach der Bestrahlung.

II. Versuche mit Bacterium typhimurium.

20. Strahlen von 438 μμ Wellenlänge
Temperatur 35°—32°
Bestrahlungszeit 45 Minuten
Zahl der Bakterienkolonien
unbestrahlt 16 355
bestrahlt 17 577
Er wurden 2 Mäuse geimpft:
Die 1. Maus bekam 10 cmm der unbestrahlten Aufschwemmung subkutan.
Die 2. Maus bekam 10 cmm d. bestrahlt. Aufschwemmung subkutan.
Beide Mäuse gingen nach wenigen Tagen zugrunde.

21. Strahlen von 396 μμ Wellenlänge
Temperatur 34°—29°
Bestrahlungszeit 45 Minuten
Zahl der Bakterienkolonien
unbestrahlt 1525
bestrahlt 9546
Die 1. Maus bekam 20 cmm der unbestrahlten, die 2. Maus 20 cmm der bestrahlten Aufschwemmung subkutan.
Beide Mäuse starben nach mehreren Tagen.

III. Versuche mit Bacterium prodigiosum

22. Strahlen von 438 μμ Wellenlänge
Temperatur 33°—31°
Bestrahlungszeit 40 Minuten
Zahl der Bakterienkolonien
unbestrahlt 2597 orangerot gewachsen
bestrahlt 745 blaßrosa gewachsen.

23. Strahlen von 415 μμ Wellenlänge
Temperatur 36°—29°
Bestrahlungszeit 45 Minuten
Zahl der Bakterienkolonien
unbestrahlt 400
bestrahlt 2

24. Strahlen von 396 μμ Wellenlänge
Temperatur 35°—29°
Bestrahlungszeit 45 Minuten
Zahl der Bakterienkolonien
unbestrahlt 725
bestrahlt 369 am 3. Tage gewachsen
3869 nach 15 Tg. gewachsen

25. Strahlen von 415 μμ Wellenlänge
Temperatur 12°—13°
Bestrahlungszeit 45 Minuten
Zahl der Bakterienkolonien
unbestrahlt 4576
bestrahlt 5575

26. Strahlen von 396 μμ Wellenlänge
Temperatur 34°—29°
Bestrahlungszeit 45 Minuten
Zahl der Bakterienkolonien
unbestrahlt 5804
bestrahlt 1852

Um festzustellen, ob die Wärme an der Veränderung des Bakterienwachstums beteiligt ist, wurden Kontrollversuche bei gleicher Temperatur und Zeit, aber ohne Bestrahlung angestellt. Die Zahl der Bakterien blieb sich gleich oder verminderte sich leicht, wo im bestrahlten Versuch Vermehrung stattfand.

Die Versuche haben ergeben, daß einzelne Ausschnitte des sichtbaren Spektrums Bakterien nicht zu töten vermögen. Im roten und grünen Licht vermehren sich sogar die Bakterien. Nur blaues und violettes Licht wirken Wachstum hemmend oder verzögernd auf Colibazillen und Bact. prodigiosum. Während Mäusetyphus auch bei diesen Wellenlängen nicht beeinflußt zu werden scheint. Der Farbstoff von Bact. prodigiosum wurde durch blaue und violette Strahlen abgeblaßt. Wenn das geschieht, so ist das das erste Zeichen dafür, daß Farbstoff bildende Bakterien geschädigt worden sind. Die Zeit spielt keine

Rolle. Auch bei zweistündiger Bestrahlung trat nur eine leichte Verminderung der Colibazillen ein.

Wenn im Flußwasser, das über 25° warm ist, Bakterien durch Sonnenlicht abgetötet werden (22), so ist diese Wirkung nicht auf eine Strahlenart (blau oder violett z. B.) zurückzuführen, sondern auf die Gesamtstrahlung außer Ultraviolett; denn dieses kann wie schon erwähnt wurde, nicht in Betracht kommen, weil Flußwaser, das reinigungsbedürftig ist, nicht durchsichtig und klar, sondern getrübt ist. In Wasser, das nur in ganz geringem Grade getrübt ist, dringen ultraviolette Strahlen auch nicht den Bruchteil eines Millimeters tief ein (8).

Am Schlusse meiner Ausführungen gestatte ich mir, Herrn Prof. Dr. K. Wolf für die Überlassung des Themas und Übernahme des Referats meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

(1) Downs und Blunt: Proceedings of the Roy. Soc. of London 1877. Bd. 26.
(2) Buchner: Arch. f. Hyg. 17, 179. 1893.
(3) Koch, Robert: Kongreßvortrag 1899, Berlin.
(4) Bergen, van: Hyg. Rundschau 1921/22, 31/32.
(5) Finsen. Finsens Mitteilungen 1903/04.
(6) Strebel: Deutsche medizin. Wochenschr. 1901, S. 69.
(7) Bie: Hyg. Rundschau 1905/15.
(8) Thiele und Wolf: Arch. f. Hyg. 1906, Bd. 57 und 60.
(9) Hertel: Zeitschr. f. allgemeine Physiologie 5, 95. 1905.
(10) Gardenghi: Zentralbl. f. Bakt. Ref. 42, 1909.
(11) Bang: Deutsche medizin. Wochenschrift 1901.
(12) Fulson und Coblentz: Zentralbl. f. Bakt. Ref. 1927, 85.
(13) Risler, Philibert und Courtier: ebenda 1928, 91.
(14) Piras: Zentralbl. f. Hyg. 1929, 18.
(15) Geißler: Zentralbl. f. Bakt. Bd. 11, S. 161.
(16) Beck und Schulze: Zeitschr. f. Hyg. 1896, Bd. 23.
(17) Ward: Proceed. of the Roy. Soc. of London. 1894, Bd. 54.
(18) Wiesner: Arch. f. Hyg. 1907, Bd. 61.
(19) Miramond de Laroquette: Ann. de l'Institut Pasteur. T. 32, 1918.
(20) Lingen, Stephan van der: Zeitschr. f. Hyg. C I, 1924.
(21) Schwarz u. Schellenberg: Centralbl. f. Bakt. 116, 1930. Originale.
(22) Wolf: Deutsche medizinische Wochenschrift 1906, Nr. 38.
(23) Dorno C.: Studie über Licht und Luft im Hochgebirge Braunschweig, 1911.

Lebenslauf.

Geboren bin ich, Maria Meta Ruth Plotz, am 7. Februar 1907 als Tochter des ehemaligen Hilfsgeistlichen Walter Plotz und seiner Ehefrau Meta geb. Walther, in Thalheim im Erzgebirge.

Ich besuchte von 1913—1919 die Höhere Mädchenschule und von 1919—1926 das Realgymnasium zu Pirna. Vom Sommer 1926—1928 studierte ich in Tübingen Medizin und machte dort 1928 das Physikum. Die klinischen Semester verbrachte ich an den Universitäten Graz, München, Königsberg und Tübingen, wo ich das Staatsexamen 1931 ablegte.